

Toll 様受容体の溶液構造

松嶋範男¹、西谷千明²、高橋素子²、黒木由夫²、神保雄次³、和泉義信³
(札幌医大保健医療学部¹、札幌医大医学部²、山形大学理工学研究科³)

生体防御の機構として、獲得免疫の他に自然免疫の重要性も認識されている。自然免疫は、ヒトなどの脊椎動物ばかりではなく、植物においても病原体を防御するために同様な機構が働く。脊椎動物の自然免疫においては、Toll-like receptor (TLR)が中心的な役割を果たしている。ヒト TLR は、TLR1 から TLR10 からなりファミリーを形成している。TLR はタイプ I 型の膜蛋白質で、また糖鎖を結合する糖蛋白質である。膜の外側はエクストドメインと呼ばれ、ロイシン・リッチ・リピート(Leucine Rich Repeat, LRR)を含む。この LRR を含むエクストドメインが、リポサッカライド、ペプチドグリカン、フラジエリン、RNA や DNA などのリガンドとの相互作用して、そのシグナルが細胞質側に伝えられ一連の防護機構が発現すると考えられている。これまで、TLR1, TLR2, TLR3 および TLR4 のエクストドメインの結晶構造解析が成功している。これらのエクストドメインはすべて、他の LRR 構造と同様に、分子全体が馬蹄型をしている。本研究の目的は、X線小角散乱測定から TLR4, TLR4 と MD2 複合体の溶液中の構造情報を得ることである。

TLR4 エクストドメインおよび TLR4 エクストドメインと MD-2 との複合体の溶液 X

線小角散乱測定を行った。タンパク濃度 1.78 μ M、測定時間 20 分から 30 分の条件下において、TLR4 の慣性半径 (Rg) は 33.0~34.7 Å の値を得た。この観測値は、TLR4:MD-2 複合体の結晶構造解析の原子座標 [2Z64.pdb] を使って計算した Rg=31.2 Å と比較できる値であった。また、TR4-MD-2 複合体の溶液小角散乱の測定値 Rg は、タンパク濃度 1.78 μ M、測定時間 30 分の条件下において、~51 Å であった。このことは、TR4 : MD-2 の複合体は、溶液中において 1:1 ではなく 2:2 の複合体を形成しているように思われる。

しかしながら、これらの測定をとうして、いくつかの問題点が浮かびあがってきた。測定に用いたタンパク濃度は、普通溶液 X 線小角散乱測定に用いるタンパク濃度より一桁以上薄い。測定時間を 20~30 分にしても、分子の形状を反映する高角領域の信頼できる散乱強度をえることができなかった。また、試料調製において、1.78 μ M のような非常に希薄なタンパク濃度においても、均一な溶液試料をえることができないケースが多かった。溶液 X 線小角散乱の二次元検出器の開発が望まれる。